チェックカラーヒスタミン Q&A

■ヒスタミンについて

ヒスタミンとは、どのような物質ですか？
アレルギー様食中毒（ヒスタミン中毒）とは、どのようなものですか？
ヒスタミンが、食品にどの程度含まれると中毒症状がおこりますか？
食品中に含まれるヒスタミン量に対しての規制は、ありますか？
ヒスタミン量の測定方法には、どのようなものがありますか？

■キッコーマンのヒスタミン測定システムについて

キッコーマンヒスタミン測定システムが、他の検査法に比べ優れている点は？
キッコーマンヒスタミン測定システムを用いた検査に、必要な機器・器具は？
一般的な吸光度計でも、測定できますか？

■推奨測定器（吸光度計 B）について

吸光度計 B の大きさは、どのくらいですか？
推奨測定器（吸光度計 B）の測定器の操作は、難しいのでしょうか？
推奨測定器（吸光度計 B）の測定用セルを、追加購入したいのですが？

■チェックカラー ヒスタミン（測定キット）について

チェックカラー ヒスタミンで、測定可能な、ヒスタミン濃度範囲は？
チェックカラー ヒスタミン 1 キットで測定できる検体数は、いくつですか？
ヒスタミン抽出用溶液を調整する設備がありません。市販のもので代用できますか？
溶解後残った発色試薬の保存は、どのようにしたらよいですか？
溶解後残った酵素試薬の保存は、どのようにしたらよいですか？

■検体からのヒスタミン抽出について

生魚から、ヒスタミンを抽出する際、煮沸処理するのは、なぜですか？
検体または、ヒスタミンを抽出した後の検体をすぐに測定できない時は、どうしたらよいですか？
検体中に夾雑物質があると測定できないそうですが、夾雑物質とは、どのようなものですか？
夾雑物質があった場合、測定値は、実際のヒスタミン量より、高くなりますか？低くなりますか？
検体中に夾雑物質があるかどうか、どのようにしたらわかりますか？
夾雑物質の影響を取り除く方法は、ありますか？

■測定値のトラブルについて

標準溶液の値が、低くなってしまいました。
測定した検体のヒスタミン量が本来の量より低いようです。
検体のヒスタミン濃度が高く、検出限界を超えてしまいました。
検体のヒスタミン量を計算したら、値がマイナスになってしまいました。
測定後の反応液を、しばらくして、もう一度測定したところ、測定値が高くなりました。どちらの値が正しいのですか？
生の赤身魚を、常温で何日か放置した後、ヒスタミン測定しましたが、ヒスタミンが検出されません。

■測定後について

使用後のキットの廃棄について、気をつけることは、ありますか？
測定用セルの洗浄は、どのようにしますか？

© 2013 Kikkoman Corp. (20140701)

■その他

生魚以外の検体も測定することはできますか？

添加回収試験に使用する標準ヒスタミン溶液(1000ppm)を調整する設備がありません。市販のもので代用できますか？

■ヒスタミンについて

Q.ヒスタミンとは、どのような物質ですか？

アミノ酸であるヒスチジンから合成されるアミンの一種です。赤身魚（マグロ、サンマ、カツオ、アジ、サバなど）などヒスチジンが多く含まれる食品が、ヒスタミン生成菌に汚染された場合に、ヒスタミンが、生成されます。

また、通常でも人間の、のどや鼻粘膜の上皮に多い肥満細胞や好塩基球などに存在しますが、過剰になると、アレルギー症状を引き起こします。

Q.アレルギー様食中毒（ヒスタミン中毒）とは、どのようなものですか？

ヒスタミン生成菌に赤身魚が汚染されている場合、食品の製造加工時や輸送中、家庭等での保存時の温度管理の不備により、ヒスタミン生成菌が増殖して、多量のヒスタミンが生成されます（参照：Q ヒスタミンとは、どのような物質ですか？）。

ヒスタミンは熱に強く、一度生成されると、通常の加熱調理では分解されずに魚肉内に残ります。そのため、ヒスタミンに汚染された魚や、その加工食品を摂取することによってアレルギー様症状が引き起こされることがあります。これを食品衛生学上、アレルギー様食中毒（ヒスタミン中毒）と呼んでいます。

Q.ヒスタミンが、食品にどの程度含まれると中毒症状がおこりますか？

一般的には、ヒスタミンを 100mg/100g＝1000ppm 以上を含む食品を摂取した場合に症状があらわれると言われています。

ヒスタミンは、アレルギー反応、胃酸分泌、血圧など、人体において様々な生理作用に関与する化学物質です。そのため、高濃度摂取により、30 分～60 分ぐらいで顔面、特に口の周りや耳たぶが紅潮し、頭痛、じんま疹、発熱などの症状を呈します。たいていは、6 時間～10 時間で回復するといわれています。

Q.食品中に含まれるヒスタミン量に対しての規制は、ありますか？

日本には、まだ法的な規制はありません。

© 2013 Kikkoman Corp. (20140701)

欧米では、法的規制が定められています。したがって、食品を欧米などに輸出する際には、この規制を遵守する必要があります。

Q.ヒスタミン量の測定方法には、どのようなものがありますか？

魚肉中のヒスタミンの測定法には、バイオアッセイ法、比色法、蛍光法、高速クロマトグラフ（HPLC）法、抗原抗体反応やキャピラリー電気泳動などを利用した方法などがあります。

日本では、衛生試験法の HPLC 法、アメリカでは、公定分析法である AOAC 法に記載されている蛍光光度法が一般的です。

■キッコーマンのヒスタミン測定システムについて

Q.キッコーマンヒスタミン測定システムが、他の検査法に比べ優れている点は？

・ヒスタミンの抽出方法が、簡単で、基本的に測定妨害物質を除去する前処理操作が不要です。

・HPLC 法や他社市販キットより操作が簡単です。

・短時間で、精度良くヒスタミンを測定することができます。

・HPLC 法と、高い相関があります。

Q.キッコーマンヒスタミン測定システムを用いた検査に、必要な機器・器具は？

測定キット（チェックカラーヒスタミン）、推奨測定器（吸光度計 B　ABS-B470 株式会社共立理化学研究所製）が、必要です。

その他については、（取り扱い説明書：1 ページ右下［キットに必要な器具］ ）をごらんください。

注意点：ヒスタミンは、ガラスに吸着することがありますので、使用する器具類は、プラスチック製の物をお使いください。

Q.一般的な吸光度計でも、測定できますか？

吸光度 460nm 付近の吸光度を測定できる光度計であれば、測定できます。

注意点：カラーテスターPD470、推奨測定器（吸光度計 B　ABS-B470 株式会社共立理化学研究所製）の光路は、2cm です。光路が、1cm の光度計をお使いの場合には、ヒスタミン検出限界と、標準液の測定値が変わってきます。

（詳しくは、取扱説明書：1 ページ左［キットの性能］・2 ページ右　5）標準値の測定 をご覧ください。）

■推奨測定器（吸光度計 B）について

Q.吸光度計 B の大きさは、どのくらいですか？

推奨測定器（吸光度計 B）の大きさは、W68×L145×H48mm、重さ 200g（乾電池を含む）の、手のひらサイズです。

©　2013 Kikkoman Corp.（20140701）

Q.推奨測定器（吸光度計 B）の測定器の操作は、難しいのでしょうか？

測定操作は、下記のように簡単です。

①「パワーボタン」で、電源を入れる。

②専用カップをセットし蒸留水を入れ「ADJ ボタン」で、0 点調整をする。

③検体をセットし、「ENTER ボタン」を押す。

④測定完了

以後、③④を繰り返す。

Q.推奨測定器（吸光度計 B）の測定用セルを、追加購入したいのですが？

推奨測定器（吸光度計 B）の測定用セルは、下記の製品です。

商品名：パックテスト　専用カップ（10 個入）　型式　WAK-CC10

ご購入に関する問い合わせ先：株式会社　共立理化学研究所　TEL 03-3721-9207

■チェックカラー ヒスタミン（測定キット）について

Q.チェックカラー ヒスタミンで、測定可能な、ヒスタミン濃度範囲は？

推奨測定器（吸光度計 B）で測定した場合の、測定可能なヒスタミン濃度は、0.4-6ppm です。生魚、缶詰等を測定した場合は、サンプルを、25 倍希釈するため、サンプル濃度に換算すると、10-150ppm の範囲が測定可能となります。

また、光路長 1cm の吸光度計で測定した場合の、測定可能なヒスタミン濃度は、0.8-12ppm です。生魚、缶詰等を測定した場合は、サンプルを、25 倍希釈するため、サンプル濃度に換算すると、20-300ppm の範囲が測定可能となります。

なお、検体のヒスタミン濃度が、測定範囲より大きい場合には、検体を希釈することで、測定することができます。

Q.チェックカラー ヒスタミン 1 キットで測定できる検体数は、いくつですか？

本キットは、60 回測定用です。しかし、実際の測定では、一回の連続した測定に付き、一回の標準値の測定が必要となりますので、一回の連続して測定する検体数によって、測定可能な検体数が異なってきます。

たとえば、一回の連続した測定でキットを使い切る場合には、標準値測定が一回ですので、59 検体の測定が可能です。また、一回の連続した測定で 5 検体ずつ測定を行う場合には、5 検体ごとに標準値測定、すなわち 10 回の標準値測定が必要ですので、測定可能な検体数は、50 検体となります。

ご注意：連続した測定中、使いかけの冷凍、冷蔵保存後の試薬から、新しい試薬に切り替わる時も、標準値を測定しなおします。

© 2013 Kikkoman Corp. (20140701)

Q. ヒスタミン抽出用溶液（ 0.1M EDTA pH8.0）を調整する設備がありません。市販のもので代用できますか？

試薬の調整が困難な場合には、下記の試薬を蒸留水にて 5 倍に希釈してご使用ください。希釈により、多少ｐH が変動しますが、本キットの測定には問題ありません。

【推奨試薬】

品　　名：0.5 M EDTA(pH8.0)

商品コード：CodeNo.311-90075

製造元：株式会社ニッポンジーン

販売元：和光純薬工業株式会社

Q.溶解後残った発色試薬の保存は、どのようにしたらよいですか？

溶解した発色液は、一度で使いきっていただくことをお勧めいたしますが、やむを得ず保存する場合には、冷蔵の場合、2～8℃で一週間、冷凍の場合-10℃以下で一ヶ月、凍結融解は、三回を限度としてください。（詳しくは、取扱い説明書 2 ページ左　2.試薬の調整　（発色試薬液）　）

尚、解凍する場合は流水中で素早く行い、解凍後は必ず冷却してください。

Q.溶解後残った酵素試薬の保存は、どのようにしたらよいですか？

溶解した酵素液は、一度で使いきっていただくことをお勧めいたしますが、やむを得ず保存する場合には、凍結（-10℃以下）してください。凍結による保存期間は一ヶ月間、凍結融解は三回を限度としてください。（詳しくは、取扱い説明書 2 ページ左　2.試薬の調整　（酵素液）　）

また、凍結融解した酵素液を使いきり、引き続き新しい酵素液を使用する際は、標準値を取り直してください。

■検体からのヒスタミン抽出について

Q.生魚から、ヒスタミンを抽出する際、煮沸処理するのは、なぜですか？

ヒスタミンは、魚肉成分（筋タンパクや油）に吸着しています。そこで、サンプルを熱変性させることにより、抽出効率を高めます。また、缶詰類は、既に加熱してあるサンプルですので、煮沸が不必要となります。

Q.検体または、ヒスタミンを抽出した後の検体をすぐに測定できない時は、どうしたらよいですか？

生魚の場合は、冷凍で保存してください。保存方法での注意点は特にありませんが、解凍時に酵素反応があまり進まないように手早に解凍してください。

・煮沸しヒスタミン抽出、ろ過後の検体については、冷凍、冷蔵での保存が可能です。

・加熱処理なしでの抽出後、および、検体を前処理する場合については、検体中に酵素が含まれておりますので、凍結させる必要があります。解凍の際、おりが出てくる場合には濾紙等で除いてください。

© 2013 Kikkoman Corp. (20140701)

Q.検体中に夾雑物質があると測定できないそうですが、夾雑物質とは、どのようなものですか？

本ヒスタミン測定の反応に影響する酸化還元物質が、夾雑物質です。

魚粉については、鮮度の悪い飼料の場合、増殖した微生物によって作られた酸化還元物質が夾雑物質となる場合があります。また、缶詰については、味付けに使用されている物質が酸化還元能を持つ場合があります。

Q.夾雑物質があった場合、測定値は、実際のヒスタミン量より、高くなりますか？低くなりますか？

還元物質が多いと、値が大きくなり、酸化物質が多いと値が小さくなります。したがって、両物質の割合によって測定の影響がことなります。酸化還元物質は、抗酸化物質（ビタミン類やチトクロームなど）や酸化物質ですので、食品には非常に多種類存在しているため、どのような物質が影響しているか同定はされておりません。

Q.検体中に夾雑物質があるかどうか、どのようにしたらわかりますか？

新規の食品についてヒスタミン測定を行う場合、検体に定量のヒスタミンを添加し測定（添加回収試験）することにより、夾雑物質の影響を知り前処理が必要であるかを判断することができます。（詳しくは、お問い合わせください）

Q.夾雑物質の影響を取り除く方法は、ありますか？

魚肉やマグロ缶詰、魚醤油などについては、取扱い説明書にあるような通常の手順で抽出・測定することにより、その影響を回避できます。しかし、通常の抽出で影響を取り除けない場合には、サンプルの希釈や、固相カラムにより酸化還元物質を前処理する方法があります。（詳しくは、お問い合わせください）

■測定値のトラブルについて

Q.標準溶液の値が、低くなってしまいました。

溶解保存後の酵素液を使用した場合、保存状況により酵素活性の低下により標準値が低くなる場合がありますが、正常値（0.85 前後）の 80%以上であれば、測定に問題は、ありません。

ご注意：光路 1cm の光度計をお使いの場合では、標準溶液の測定値が、約半分（0.5 前後）となります。

（取扱説明書：　2 ページ右　測定　5）　参照）

Q.測定した検体のヒスタミン量が本来の量より低いようです。

・検体のホモジナイズが良く行われていない。

（検体のホモジナイズが良く行われていないと、ヒスタミンの抽出が完全に行われません。）

・検体に夾雑物質が含まれている。（参照 Q）

© 2013 Kikkoman Corp. (20140701)

Q.検体のヒスタミン濃度が高く、検出限界を超えてしまいました。

ヒスタミン抽出液を希釈し、その液を用いて再度測定を行ってください。

その場合、ヒスタミン濃度の計算時には、希釈倍率を考慮し計算をおこなってください。

Q.検体のヒスタミン量を計算したら、値がマイナスになってしまいました。

この検体のヒスタミン量は、測定限界の 10ppm 以下であったと思われます。(推奨測定器（吸光度計 B）を用いて測定をおこなった場合)

検体中にヒスタミンが存在しない、または、測定限界以下の濃度だった場合、検体値と、検体ブランク値の差が、測定誤差のため、計算上マイナスになることが、あります。

推奨測定器（吸光度計 B）を用いた測定では、ヒスタミン量の測定下限が、10ppm です。そこで、計算上ヒスタミン濃度が 10ppm 以下、または、マイナスとなった場合、検体のヒスタミン濃度は、測定可能範囲以下となります。したがって、このような結果が得られた場合、「検体のヒスタミン濃度は、10ppm 以下であった。」という結果となります。

Q.測定後の反応液を、しばらくして、もう一度測定したところ、測定値が高くなりました。どちらの値が正しいのですか？

反応終了直後の測定値が、正しい値です。

チェックカラー ヒスタミンの発色試薬は、太陽光により呈色しますので、太陽光の届くところに放置して測定しますと本来より高い値へと変化します。従って、測定は、反応終了後すみやかにおこなってください。

Q.生の赤身魚を、常温で何日か放置した後、ヒスタミン測定しましたが、ヒスタミンが検出されません。

ヒスタミンは、赤身魚（マグロ、サンマ、カツオ、アジ、サバなど）などヒスチジンが多く含まれる食品が、ヒスタミン生成菌に汚染された場合に、生成されます。

そのため、ヒスタミン生産菌に汚染されていない赤身魚は、腐敗が進んでも、ヒスタミンが検出されません。

■測定後について

Q.使用後のキットの廃棄について、気をつけることは、ありますか？

発色試薬および酵素の容器は、ガラス、ゴム、アルミの材質からなっています。緩衝液および標準液は、本体はポリエチレン製、キャップはポリプロピレン製です。廃棄の際は各々を分別して、都道府県・市町村が定める廃棄物の適正処理に従って廃棄処理してください。

© 2013 Kikkoman Corp. (20140701)

Q.測定用セルの洗浄は、どのようにしますか？

純水を用いて洗浄してください。引き続き検体を測定する場合には、検液で、共洗いを行ってください。簡易チェックを目的としてご使用であれば、水道水での洗浄で、問題ありません。

■その他

Q. 生魚以外の検体も測定することはできますか？

チェックカラー ヒスタミンは、生魚を対象としたヒスタミン量測定キットですが、その他の加工品等についても測定可能な場合があります。 なお、生魚以外の検査対象が測定可能であるか、また測定条件につきましての検討は、ユーザー様にお願いいたしております。生魚以外の検査につきまして、ご不明な点がございましたら、お問い合わせください。

Q.添加回収試験に使用する標準ヒスタミン溶液(1000ppm)を調整する設備がありません。市販のもので代用できますか？

生魚以外の検査対象が測定可能であるかを確認するためには、高濃度の標準ヒスタミン溶液を用いて添加回収試験を行います。添加回収試験用の標準ヒスタミン溶液の調整が困難な場合には、下記の試薬をご使用ください。

【推奨試薬】

品　　名：ヒスタミン溶液 1000ppm

商品コード：44012953

製造元：林 純薬工業株式会社

© 2013 Kikkoman Corp. (20140701)